


PCT
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A62D 3/00, C02F 3/34, B09C 1/10</p>	A1	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/15354</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 1. Mai 1997 (01.05.97)</p>		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP96/04421</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 11. Oktober 1996 (11.10.96)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 195 39 445.3 24. Oktober 1995 (24.10.95) DE 196 17 283.7 30. April 1996 (30.04.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BAYER AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-51368 Leverkusen (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WETZSTEIN, Heinz-Georg [DE/DE]; Schleiermacherstrasse 13, D-51377 Leverkusen (DE); RAST, Hans-Georg [DE/DE]; Rommerscheider Höhe 10, D-51465 Bergisch Gladbach (DE); KARL, Wolfgang [DE/DE]; Gartenstrasse 44, D-51519 Odenthal (DE); MARTENS, Rainer [DE/DE]; Windausstrasse 15, D-38116 Braunschweig (DE); ZADRAZIL, Frantisek [DE/DE]; Mühlenweg 9, D-38543 Hillersee (DE).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER AKTIENGESELLSCHAFT; D-51368 Leverkusen (DE).</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, KZ, LK, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SK, TR, UA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p> </td> </tr> </table>			<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP96/04421</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 11. Oktober 1996 (11.10.96)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 195 39 445.3 24. Oktober 1995 (24.10.95) DE 196 17 283.7 30. April 1996 (30.04.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BAYER AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-51368 Leverkusen (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WETZSTEIN, Heinz-Georg [DE/DE]; Schleiermacherstrasse 13, D-51377 Leverkusen (DE); RAST, Hans-Georg [DE/DE]; Rommerscheider Höhe 10, D-51465 Bergisch Gladbach (DE); KARL, Wolfgang [DE/DE]; Gartenstrasse 44, D-51519 Odenthal (DE); MARTENS, Rainer [DE/DE]; Windausstrasse 15, D-38116 Braunschweig (DE); ZADRAZIL, Frantisek [DE/DE]; Mühlenweg 9, D-38543 Hillersee (DE).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER AKTIENGESELLSCHAFT; D-51368 Leverkusen (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, KZ, LK, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SK, TR, UA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP96/04421</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 11. Oktober 1996 (11.10.96)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 195 39 445.3 24. Oktober 1995 (24.10.95) DE 196 17 283.7 30. April 1996 (30.04.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BAYER AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-51368 Leverkusen (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WETZSTEIN, Heinz-Georg [DE/DE]; Schleiermacherstrasse 13, D-51377 Leverkusen (DE); RAST, Hans-Georg [DE/DE]; Rommerscheider Höhe 10, D-51465 Bergisch Gladbach (DE); KARL, Wolfgang [DE/DE]; Gartenstrasse 44, D-51519 Odenthal (DE); MARTENS, Rainer [DE/DE]; Windausstrasse 15, D-38116 Braunschweig (DE); ZADRAZIL, Frantisek [DE/DE]; Mühlenweg 9, D-38543 Hillersee (DE).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER AKTIENGESELLSCHAFT; D-51368 Leverkusen (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, KZ, LK, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SK, TR, UA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>			
<p>(54) Title: METHODS FOR DECOMPOSING QUINOLONES AND NAPHTHYRIDONES</p> <p>(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM ABBAU VON CHINOLONEN UND NAPHTHYRIDONEN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns two methods of treating quinolones and naphthyridones having an antimicrobial, in particular antibacterial, action, as well as derivatives of such compounds with wood-rotting fungi, optionally in the presence of water and/or inert solid or liquid substrates and other auxiliaries.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die vorliegende Erfindung betrifft zwei Verfahren zur Behandlung antimikrobiell, insbesondere antibakteriell wirkender Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivate mit Holzfäulepilzen, gegebenenfalls in Gegenwart von Wasser und/oder inerten festen oder flüssigen Substraten sowie weiteren Hilfsstoffen.</p>				

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LJ	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

Verfahren zum Abbau von Chinolonen und Naphthyridonen

5 Die vorliegende Erfindung betrifft zwei Verfahren zum Abbau von antimikrobiell, insbesondere antibakteriell wirkenden Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und ihrer Derivate mit Hilfe von Holzfäulepilzen.

10 Antimikrobiell wirkende Substanzen finden breiten Einsatz in der Medizin und Veterinärmedizin. Mit der Herstellung dieser Wirkstoffe einher gehen Probleme bei der Beseitigung von wirkstoffhaltigen Produktionsrückständen, Abwässern und Verpackungen. Probleme bereiten auch wirkstoffhaltige Abwässer von Großver-
brauchern wie Kliniken, Tierzüchtern und Mästereien. Weitere Probleme kann es mit der Dekontaminierung von Wässern oder Böden geben, wenn bei Unfällen Wirkstoff unerwünscht freigesetzt wird.

15 In derartigen Fällen kann die antimikrobielle Aktivität der Wirkstoffe den üblichen Abbau durch Bakterien in Böden, Wässern, Kläranlagen verhindern. Es kann u.U. sogar zu einer unerwünschten Störung, z.B. biologisch arbeitender Kläranlagen, kommen, wenn größere Mengen wirkstoffhaltiger Abwässer verarbeitet werden müssen, d.h. in all diesen Fällen ist eine aufwendige Vorbehandlung der Abwässer, Rückstände etc. erforderlich.

20 Für diese Fälle sollte eine einfache Behandlung gefunden werden, durch die die Wirkstoffe so weit abgebaut werden, daß sie ihre antibiotische Wirkung verlieren und ihr weiterer Abbau durch die üblichen biologischen Abbaumethoden erfolgen kann.

25 Aus a) DE-OS 4 104 624 und b) EP 0 192 237 A1 waren Verfahren zum Abbau von organischen Schadstoffen mit Hilfe von ligninabbauenden Pilzen bekannt.

Allerdings wird der Abbau in a) nur am Beispiel aromatischer Kohlenwasserstoffe gezeigt. Halogenhaltige Kohlenwasserstoffe können nach DE-OS 4 104 624 nicht auf diese Weise abgebaut werden.

In EP 0 192 237 A1 sind einige Beispiele für chlorierte Kohlenwasserstoffe genannt, die durch den Weißfäulepilz *Phanerochaete chrysosporium* abgebaut werden.

- 5 Es war nicht zu erwarten, daß die fluorhaltigen heteroaromatischen Chinolone und Naphthyridone durch Weißfäulepilze und insbesondere Braunfäulepilze oder gar holzabbauende Ascomyceten angegriffen werden. Im Gegenteil, es besteht die vielfach öffentlich geäußerte Überzeugung, daß es keine Mikroorganismen gibt, die solche Verbindungen abbauen können (vgl. z.B. in der schwedischen Zeitschrift "Land" Juni 1995, Seite 4). In der wissenschaftlichen Literatur gibt es
10 keinen Hinweis auf einen signifikanten Abbau solcher Verbindungen durch Mikroorganismen. Ebenso werden den Braunfäulepilzen allgemein nur sehr eingeschränkte Fähigkeiten bei der Spaltung von aromatischen Ringen mit zudem deutlich geringeren Kapazitäten (im Vergleich zu Weißfäulepilzen) zugesprochen (J. Buswell, 1991). In den Abstracts der "Division of Agrochemicals of the
15 American Chemical Society 1993 issue No. 44" wird in einem Abstract (No. 92) über die extrem geringe Bioverfügbarkeit von ¹⁴C-markiertem Sarafloxacin in Erdproben berichtet. Es wurde festgestellt, daß Sarafloxacin durch Mikroorganismen im Boden nicht nennenswert abgebaut wurde.

Die vorliegende Erfindung betrifft

- 20 1. Verfahren zur Behandlung von antimikrobiell, insbesondere antibakteriell wirkenden Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivaten mit Holz-, insbesondere Weißfäule- oder Braunfäulepilzen, gegebenenfalls in Gegenwart von Wasser und/oder inerten festen oder flüssigen Substraten sowie weiteren Hilfsstoffen.
- 25 2. Verfahren zum Abbau von antibakteriell und antimikrobiell wirkenden Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivaten, dadurch gekennzeichnet, daß die Wirkstoffe mit Holz-, insbesondere Weiß- oder Braunfäulepilzen gegebenenfalls in Gegenwart von Wasser und/oder inerten festen oder flüssigen Substraten sowie weiteren Hilfsstoffen behandelt
30 werden.

3. Verfahren zur Behandlung von Abwässern die antibakteriell und antimikrobiell wirkende Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivate enthalten mit Holz- insbesondere Weiß- oder Braunfäulepilzen.
- 5 4. Verfahren zur Behandlung von Mist aus Intensivtierhaltung, der antibakteriell und antimikrobiell wirkende Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivate enthält mit Holz-, insbesondere Weiß- oder Braunfäulepilzen.
- 10 5. Verfahren zur Behandlung von Böden die antibakteriell und antimikrobiell wirkende Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivate enthalten mit Holz-, insbesondere Weiß- oder Braunfäulepilzen.

Die bekanntesten holzerstörenden Basidiomyceten werden in 2 große Gruppen unterteilt: zum einen in die Lignin abbauenden Weißfäulepilze, zum anderen in die Cellulose und Hemicellulose abbauenden Braunfäulepilze, welche Lignin im wesentlichen nicht abbauen, sondern lediglich durch Hydroxylierung und

15 Demethylierungen modifizieren. Weißfäulepilze zeichnen sich durch extrazelluläre Enzyme wie Ligninperoxidasen, Manganperoxidasen und Laccasen aus, die den Braunfäulepilzen in der Regel fehlen. Beide Gruppen lassen sich durch chemische Nachweismethoden unterscheiden (s. z.B. Stalpers, 1978, Studies in Mycology, No. 16, Centralbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Holland). Bei

20 Braunfäulepilzen kommt dem Hydroxylradikal die entscheidende Bedeutung für die Abbauaktivität zu. Die großen Unterschiede zwischen Weiß- und Braunfäulepilzen, insbesondere hinsichtlich der molekularen Mechanismen des Holzabbaus, sind in der Fachliteratur dokumentiert (siehe z.B. Evans et al., FEMS Microbiological Reviews 13 (1994) 235-240).

- 25 Als Beispiele für Gattungen der Holzfäulepilze, die in den erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt werden können, seien genannt:

Weißfäulepilze:

- Bjerkandera sp.
Cladoderris sp.
30 Coriolopsis sp.
Coriolus sp.

- Ganoderma sp.
- Irpex sp.
- Phanerochaete sp.
- Phellinus sp.
- 5 Phlebia sp.
- Pleurotus sp.
- Trametes sp.
- Trichaptum sp.

Braunfäulepilze:

- 10 Fomitopsis sp.
- Gloeophyllum sp.
- Leatiporus sp.
- Pholiota sp.
- Serpula sp.

15 **Streuabbauer:**

- Agrocybe sp.
- Hypholoma sp.
- Stropharia sp.

Sonstige:

- 20 Xylaria sp. (Ascomycet)

Bevorzugt seien die folgenden Spezies beispielhaft genannt:

Weißfäulepilze:

- Bjerkandera adusta DSM 4708
- Cladoderris dendritica DSM 9611
- 25 Corioloopsis rigida DSM 9596
- Coriolus sp.
- Ganoderma lucidum DSM 9621
- Irpex lacteus DSM 9595

- Phanerochaete chrysosporium DSM 9620
Phanerochaete chrysosporium DSM 1556
Phanerochaete chrysosporium ATCC 24725
Phellinus gilvus DSM 9602
5 Phlebia radiata DSM 5111
Pleurotus sp. DSM 9618
Trametes versicolor DSM 3086
Trametes villosa DSM 9589
Trichaptum bysogenum DSM 9597

10 **Braunfäulepilze:**

- Fomitopsis spraguei DSM 9600
Gloeophyllum sepiarium DSM 6420
Gloeophyllum striatum DSM 9594
Gloeophyllum striatum DSM 9592
15 Gloeophyllum striatum DSM 10335
Gloeophyllum trabeum DSM 3087
Leatiporus sulphureus DSM 2785
Pholiota aurivella DSM 5070
Serpula lacrymans DSM 8728

20 **Streuabbauer:**

- Agrocybe sp.
Hypholoma sp.
Stropharia rugosoannulata DSM 9616
Stropharia sp.

25 **Sonstige:**

- Xylaria digitata DSM 914 (Ascomycet)

Ganz besonders bevorzugt seien genannt:

Weißfäulepilze:

Irpex lacteus DSM 9595

Phanerochaete chrysosporium DSM 1556

Phanerochaete chrysosporium DSM 9620

5 Braunfäulepilze:

Gloeophyllum striatum DSM 9592

Gloeophyllum striatum DSM 9594

Gloeophyllum striatum DSM 10335

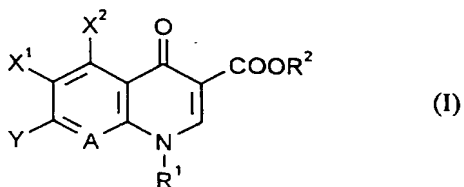
Streuabbauer:**10 Stropharia rugosoannulata DSM 9616**

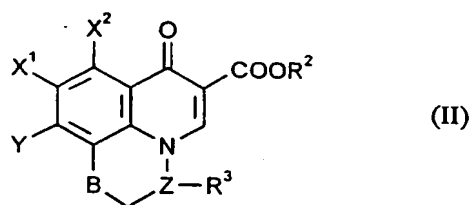
Holzfäulepilze sind bekannt. Die obengenannten Spezies von Holzfäulepilzen sind in öffentlichen Sammlungen von Mikroorganismen enthalten und frei zugänglich, z.B. die mit DSM gekennzeichneten bei der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen (DSMZ), Mascheroder Weg 1b, 38116 Braunschweig.

15 Es ist ohne weiteres möglich, eine der genannten Spezies durch eine andere derselben Gruppe zu ersetzen.

Als antibakteriell und antimikrobiell wirkende Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren seien die Verbindungen der folgenden Formeln (I) und (II) genannt:

20

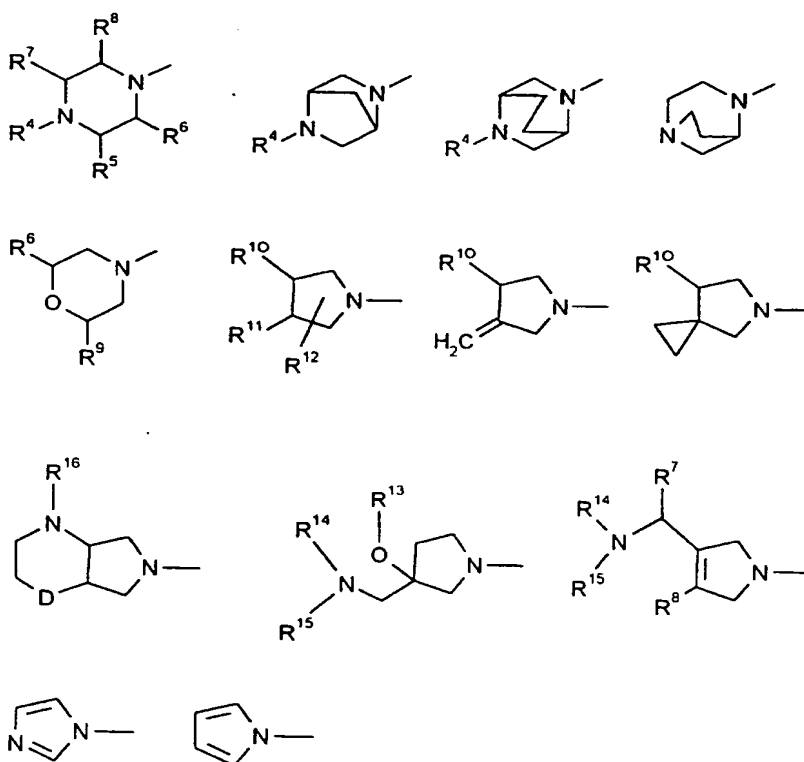




in welchen

X^1 und X^2 unabhängig voneinander für Wasserstoff, Halogen, C_{1-4} -Alkyl, C_{1-4} -Alkoxy, NH_2 stehen,

5 Y für Reste der Strukturen



10

steht, worin

- R^{16} = H, $-CH_3$, $-CH=CH-CO_2R^{16'}$, $-CH_2-CH_2-CO_2R^{16'}$, $-CH_2-CO-CH_3$, $-CH_2-CH_2-CN$
- $R^{16'}$ = Me, Et
- D = O, $-CH_2-$
- 5 R^4 für Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy oder Methoxy substituiertes geradkettiges oder verzweigtes C_1-C_4 -Alkyl, Cyclopropyl, Acyl mit 1 bis 3 C-Atomen steht,
- R^5 für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Thienyl oder Pyridyl steht,
- R^6 für Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl steht,
- 10 R^7 für Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl steht,
- R^8 für Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl steht,
- R^9 für Wasserstoff, Methyl oder $-CH_2-NR^7R^8$ steht,
- 15 R^{10} für Wasserstoff, C_{1-4} -Alkyl, Amino, gegebenenfalls durch Hydroxy substituiertes Alkyl- oder Dialkylamino mit 1 oder 2 C-Atomen im Alkylteil, Amino- C_{1-4} -alkyl, C_{1-4} -Alkylamino- C_{1-4} -alkyl oder 1-Imidazolyl steht,
- R^{11} für Wasserstoff, Hydroxy, Methoxy, Methylthio, Halogen, Methyl, Hydroxymethyl steht,
- R^{12} für Wasserstoff oder Methyl steht,
- 20 R^{13} für Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl steht,
- R^{14} für Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl steht und
- R^{15} für Wasserstoff oder C_{1-4} -Alkyl steht,

- 5 R^1 für Wasserstoff, einen gegebenenfalls halogensubstituierten Alkylrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, Cyclopropyl, Methoxy, 4-Fluorphenyl, 2,4-Difluorphenyl oder Methylamino steht,
- R^2 für Wasserstoff oder gegebenenfalls durch Methoxy oder 2-Methoxyethoxy substituiertes Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen sowie Cyclohexyl, Benzyl, 2-Oxopropyl, Phenacyl, Ethoxycarbonylmethyl, Pivaloyloxymethyl steht,
- R^3 für Wasserstoff, Methyl oder Ethyl steht und
- 10 X^1 und Y gemeinsam mit den angrenzenden C-Atomen für einen Dioxolanylrest oder Dioxoamylrest stehen.
- A für Stickstoff oder $=CH-$, $=C(\text{Halogen})-$, $=C(OCH_3)-$, $=C(CH_3)-$, $=C(CN)-$ steht,
- B für Sauerstoff, gegebenenfalls durch Methyl oder Phenyl substituiertes $=N-$ sowie $=CH_2$ steht,
- 15 Z für $=CH-$ oder $=N-$ steht,

und deren pharmazeutisch verwendbare Hydrate, Säureadditionssalze und Salze mit Basen. Die Verbindungen der Formeln I und II können in Form ihrer Racemate oder in enantiomeren Formen vorliegen.

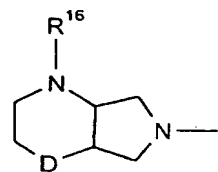
Bevorzugt sind Verbindungen der Formeln (I) und (II)

20 in welchen

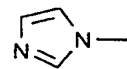
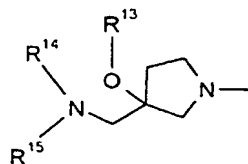
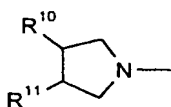
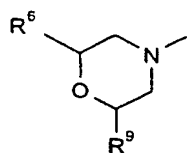
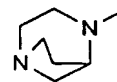
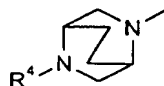
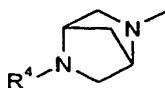
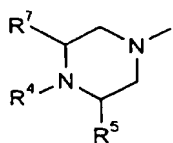
- R^1 für gegebenenfalls durch Fluor substituiertes C_1 - C_3 -Alkyl oder für Cyclopropyl steht,
- 25 R^1 für einen Alkylrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, Cyclopropyl, 2-Fluorethyl, Methoxy, 4-Fluorphenyl, 2,4-Difluorphenyl oder Methylamino steht,

- R^2 für Wasserstoff oder gegebenenfalls durch Methoxy oder 2-Methoxyethoxy substituiertes Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen sowie Cyclohexyl, Benzyl, 2-Oxopropyl, Phenacyl, Ethoxycarbonylmethyl, Pivaloyloxymethyl steht,
- 5 R^3 für Wasserstoff, Methyl oder Ethyl steht und
- A für Stickstoff oder $=CH-$, $=C(\text{Halogen})-$, $=C(OCH_3)-$, $=C(CH_3)-$, $=C(CN)-$ steht,
- B für Sauerstoff, gegebenenfalls durch Methyl oder Phenyl substituiertes $=N-$ sowie $=CH_2$ steht,
- 10 Z für $=CH-$ oder $=N-$ steht,
- X^1 und X^2 unabhängig voneinander für Wasserstoff, Halogen oder NH_2 stehen,

Y für Reste der Strukturen



15



steht, worin

- 5 R^{16} = H, $-CH_3$,
- D = O, $-CH_2-$
- R^4 für Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy substituiertes geradkettiges oder verzweigtes C_1 - C_3 -Alkyl, Oxalkyl mit 1 bis 4 C-Atomen steht,
- R^5 für Wasserstoff, Methyl oder Phenyl steht,
- R^6 für Wasserstoff oder Methyl steht,
- R^7 für Wasserstoff oder Methyl steht,
- R^9 für Wasserstoff, Methyl oder $-CH_2NH_2$ steht,
- 10 R^{10} für Wasserstoff, Methyl, Amino, Methylamino, Dimethylamino, Aminomethyl, Methylaminomethyl oder Ethylaminomethyl steht,
- R^{11} für Wasserstoff, Hydroxy, Methyl, Fluor, Methyl oder Hydroxymethyl steht,
- R^{13} für Wasserstoff oder Methyl steht,
- 15 R^{14} für Wasserstoff oder Methyl steht,
- R^{15} für Wasserstoff oder Methyl steht,

und deren pharmazeutisch verwendbaren Hydrate und Säureadditionssalze sowie ihre Alkali-, Erdalkali-, Silber- und Guanidiniumsalze.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der Formel (I), in welcher

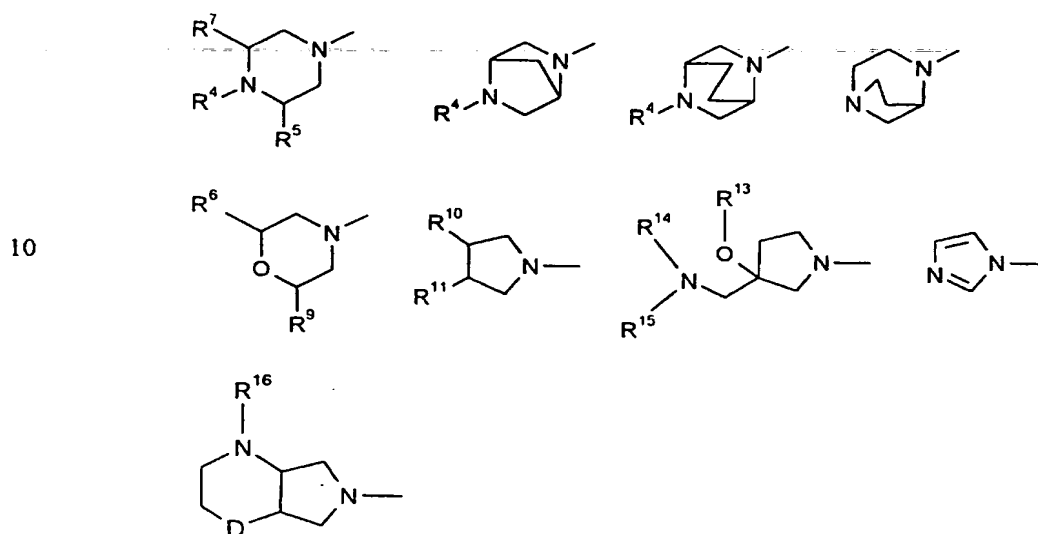
- 20 R^1 für einen Alkylrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, Cyclopropyl, 2-Fluorethyl, Methoxy, 2,4-Difluorphenyl oder Methylamino steht,

R^2 für Wasserstoff oder gegebenenfalls durch Methoxy oder 2-Methoxyethoxy substituiertes Alkyl mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen sowie Cyclohexyl, Benzyl, 2-Oxopropyl, Phenacyl, Ethoxycarbonylmethyl, Pivaloyloxymethyl steht,

5 A für Stickstoff oder $=CH-$, $=C(\text{Halogen})-$, $=C(CH_3)-$, $=C(OCH_3)-$, $=C(CN)-$ steht,

X^1 und X^2 unabhängig voneinander für Wasserstoff, Fluor, NH_2 stehen,

Y für Reste der Strukturen



steht, worin

R^{16} = H, $-CH_3$
 D = O, $-CH_2-$

15 R^4 für Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy substituiertes geradkettiges oder verzweigtes C_1 - C_3 -Alkyl, Hydroxyalkyl mit 1 bis 4 C-Atomen steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder Phenyl steht,

- R⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,
- R⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,
- R⁹ für Wasserstoff, Methyl oder -CH₂NH₂ steht,
- 5 R¹⁰ für Wasserstoff, Methyl, Amino, Methylamino, Dimethylamino, Aminomethyl, Methylaminomethyl oder Ethylaminomethyl steht,
- R¹¹ für Wasserstoff, Hydroxy, Methyl, Fluor, Methyl oder Hydroxymethyl steht,
- R¹³ für Wasserstoff oder Methyl steht,
- R¹⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,
- 10 R¹⁵ für Wasserstoff oder Methyl steht,

und deren pharmazeutisch verwendbaren Hydrate und Säureadditionssalze sowie ihre Alkali-, Erdalkali-, Silber- und Guanidiniumsalze.

15 Ganz besonders bevorzugt seien genannt die Wirkstoffe mit den common names Enrofloxacin, Ciprofloxacin, Danofloxacin, Ofloxacin, Norfloxacin, Benofloxacin, Sarafloxacin, Difloxacin, Orbifloxacin, Marbofloxacin und Oxolinsäure.

Insbesondere seien genannt die Wirkstoffe Enrofloxacin, Ciprofloxacin, Marbofloxacin, Ofloxacin, Norfloxacin und Oxolinsäure.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird bevorzugt in flüssigen, festen oder halbfesten homogenen oder heterogenen Medien durchgeführt.

20 Diese enthalten neben dem abzubauenen Wirkstoff und dem Holzfäulepilz Lignin-, Lignocellulose- und/oder Cellulose-haltiges Material. Dazu zählen Stroh, Häcksel, Holz, Holzspäne, Holzmehl und Getreidemahlrückstand.

Die Verfahren lassen sich wie folgt beschreiben:

1. Verfahren zum Abbau von in Wasser gelöstem Chinolon

Die Vorkultur eines der aufgeführten Holzfäulepilze, die

- 5 - in Malzbouillon, welche Malzextrakt oder eine gleichwertige Kohlenstoff- und Energiequelle in der Konzentration von 1-50 g/l, bevorzugt 5-30 g/l, insbesondere 5-8 g/l, enthält,
- bei 5-40°C, bevorzugt 15-30°C, insbesondere bei 18-22°C,
- stehend oder geschüttelt, bevorzugt geschüttelt mit 80-120 Upm,
- für einen Zeitraum von 3-28 Tagen, bevorzugt 5-14 Tage, insbesondere 5-7 Tage,
- 10 - im Dunkeln, bei Tageslicht oder allen Zwischenstufen der Beleuchtung angezüchtet wurde,

15 wird einem Spülwasser, z.B. aus dem Herstellprozess für ein chinolonhaltiges Arzneimittel, mit einem Gehalt von 0,01 bis 500 ppm, bevorzugt 0,1 bis 50 ppm, insbesondere 1 bis 20 ppm des Chinolons im Verhältnis von 0,01 bis 100 g Trockengewicht TG/l, bevorzugt 0,1 bis 10 g TG/l, insbesondere 1 bis 3 g TG/l, zugesetzt.

20 Der pH der Suspension kann 3 bis 8, bevorzugt 4 bis 7, insbesondere 5 bis 6 betragen; Phosphat wird nicht hinzugefügt. Organische Säuren, wie z.B. Essigsäure oder Oxalsäure, können zum Einstellen des pH-Werts verwendet werden.

 Der Gehalt an Eisen²⁺ oder Eisen³⁺ sollte 0,1 bis 100 µM (10⁻⁶ Mol pro Liter), bevorzugt 1 bis 30 µM, insbesondere 2 bis 20 µM betragen,

 der Gehalt an NH₄⁺ kann 0,001 bis 20 mM (10⁻³ Mol pro Liter), bevorzugt 0,1 und 10 mM, insbesondere zwischen 0,1 bis 1 mM betragen.

25 Der Gehalt an zweiwertigen Kationen soll zwischen 0,1 und 10 mM, bevorzugt 1 mM betragen (z.B. 0,2 mM CaCl₂ + 0,8 mM MgSO₄).

Diese Suspension wird unter denselben Bedingungen inkubiert wie die Vor-
kultur.

5 Die Zugabe von Coniferyl- oder Veratrylalkohol in einer Konzentration von
0,01 bis 10 mM, bevorzugt 0,1 bis 3 mM, insbesondere 0,5 bis 1 mM, hat
eine Steigerung der Abbauproduktivität für das Chinolon zur Folge.

2. **Verfahren zum Abbau von an Stroh, Mist oder Erdboden gebundenem
Chinolon**

10 Ausgehend von Stammkulturen von Holzfäulepilzen auf Petrischalen mit
Malzagar werden Lignocellulose enthaltende Stoffe, insbesondere Stroh,
Holzmehl oder Holzspäne, mit aus der Stammkultur ausgestochenen
Agarblöcken beimpft, wobei 0,1 bis 100 g Agar pro kg festes Substrat,
bevorzugt 1 bis 10 g Agar pro kg Substrat eingesetzt werden.

15 Die das Chinolon (0,1 bis 200 ppm) enthaltende feste Matrix (Stroh, Mist,
Boden, Schlamm) wird vor der Beimpfung mit Wasser bis zum Erreichen
eines Wassergehalts von 10 bis 90 %, bevorzugt 40 bis 50 % (bezogen auf
das Gewicht) versetzt.

Bei der Beimpfung wird das Inokulum in der festen Matrix verteilt. Die
nachfolgende Inkubation wird bei 5 bis 40°C, bevorzugt 15 bis 30°C, ins-
besondere bei 18 bis 22°C, durchgeführt.

20 Die folgenden Beispiele erläutern die erfindungsgemäßen Verfahren:

Beispiele

Beispiel 1

Ein Liter Spülwasser aus einem Formulierkessel mit einem Gehalt von 10 ppm Enrofloxacin wird mit einer Vorkultur von Gloeophyllum striatum DSM 9592 oder
5 Gloeophyllum striatum DSM 10335 beimpft, wobei das Pilzmycel aus der Vorkultur in 1/4-konzentrierter Malzbouillon dergestalt in das Spülwasser zu übertragen ist, daß eine Konzentration von 2 g Trockengewicht pro Liter erreicht wird. Diese Suspension wird bei Raumtemperatur unter Schütteln bei 100 Upm im Dunkeln inkubiert. Nach 2 Wochen waren 10 bis 20 % des eingesetzten [Carbo-
10 nyl-¹⁴C]-Enrofloxacins zu ¹⁴CO₂ abgebaut.

Beispiel 2

1 kg Weizenstroh, das 2 mg Enrofloxacin adsorptiv gebunden enthielt, wurde mit 1 kg Wasser angefeuchtet und mit Gloeophyllum striatum DSM 9594 beimpft. Das
15 Inokulum bestand aus 20 Agarblöcken von jeweils etwa 0,5 g Gewicht. Diese Blöckchen waren aus einer Vorkultur auf Malzagar aus der Pilzkolonie in einer Petrischale ausgestochen worden. Der Ansatz wurde bei Raumtemperatur im Dunkeln unter Begasung mit angefeuchteter Luft inkubiert. Nach 8 Wochen waren 50 % des Enrofloxacins abgebaut.

Beispiel 3

20 0,5 kg angefeuchtete Holzspäne wurden mit Phanerochaeta chrysosporium DSM 9620 beimpft und 1 Woche bei Raumtemperatur vorinkubiert. Zu diesem Ansatz wurden 0,5 kg Mist aus einem Tierbestand, der mit Enrofloxacin behandelt worden war hinzugefügt. Der Enrofloxacingehalt im Mist betrug 2 ppm. Der Ansatz wurde bei Raumtemperatur inkubiert.

Beispiel 4

0,1 kg Weizenstroh wurde mit 100 ml Wasser angefeuchtet und mit Gloeophyllum striatum DSM 9594 beimpft. Nach 7 Tagen Vorinkubation bei Raumtemperatur wurde das Stroh mit 0,6 kg Ackerboden (mit einem Wassergehalt von etwa 50 %)

überschichtet, der 10 ppm Enrofloxacin enthielt, und bei Raumtemperatur inkubiert. Nach 15 Wochen waren 6 % des eingesetzten Enrofloxacins abgebaut.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Behandlung von antimikrobiell, insbesondere antibakteriell wirkenden Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivaten mit Holzfäulepilzen gegebenenfalls in Gegenwart von Wasser und/oder inerten festen oder flüssigen Substraten sowie weiteren Hilfsstoffen.
5
2. Verfahren zum Abbau von antimikrobiell, insbesondere antibakteriell wirkenden Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivaten, dadurch gekennzeichnet, daß die Wirkstoffe mit Holzfäulepilzen gegebenenfalls in Gegenwart von Wasser und/oder inerten festen oder flüssigen Substraten sowie weiteren Hilfsstoffen behandelt werden.
10
3. Verfahren zur Behandlung von Abwässern die antimikrobiell, insbesondere antibakteriell wirkende Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivate enthalten mit Holzfäulepilzen.
4. Verfahren zur Behandlung von Mist aus Intensivtierhaltung der antimikrobiell, insbesondere antibakteriell wirkende Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivate enthält mit Holzfäulepilzen.
15
5. Verfahren zur Behandlung von Böden die antimikrobiell, insbesondere antibakteriell wirkende Chinolon- und Naphthyridoncarbonsäuren und deren Derivate enthalten mit Holzfäulepilzen.
- 20 6. Verfahren gemäß Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß als Wirkstoff Enrofloxacin oder Ciprofloxacin vorhanden ist.
7. Verfahren gemäß der Ansprüche 1-6, dadurch gekennzeichnet, daß Weißfäulepilze für den Abbau eingesetzt werden.
- 25 8. Verfahren gemäß der Ansprüche 1-6, dadurch gekennzeichnet, daß Braunfäulepilze für den Abbau eingesetzt werden.
9. Verfahren gemäß der Ansprüche 1-6, dadurch gekennzeichnet, daß holzabbauende Ascomyceten eingesetzt werden.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PC1/EP 96/04421

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A62D3/00 C02F3/34 B09C1/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A62D C02F B09C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US,A,5 143 827 (ATLAS RONALD M ET AL) 1 September 1992 ---	
A	DE,A,43 14 352 (REINHOLD & MAHLE AG ;IBL UMWELT UND BIOTECHNIK GMBH (DE)) 3 November 1994 ---	
A	DE,C,41 04 624 (RECO GMBH ENTSORGUNG UND RECYCLING) 21 January 1993 cited in the application ---	
A	EP,A,0 192 237 (UNIV MICHIGAN) 27 August 1986 cited in the application -----	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *A* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 January 1997

Date of mailing of the international search report

14-02-1997

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Dalkafouki, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 96/04421

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-5143827	01-09-92	US-A- 5049499	17-09-91
DE-A-4314352	03-11-94	NONE	
DE-C-4104624	21-01-93	NONE	
EP-A-0192237	27-08-86	CA-A- 1283872	07-05-91
		JP-A- 61204095	10-09-86
		US-A- 5459065	17-10-95
		US-A- 4891320	02-01-90

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PLI/EP 96/04421

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A62D3/00 C02F3/34 B09C1/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 A62D C02F B09C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US,A,5 143 827 (ATLAS RONALD M ET AL) 1.September 1992 ---	
A	DE,A,43 14 352 (REINHOLD & MAHLE AG ;IBL UMWELT UND BIOTECHNIK GMBH (DE)) 3.November 1994 ---	
A	DE,C,41 04 624 (RECO GMBH ENTSORGUNG UND RECYCLING) 21.Januar 1993 in der Anmeldung erwähnt ---	
A	EP,A,0 192 237 (UNIV MICHIGAN) 27.August 1986 in der Anmeldung erwähnt -----	

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

* "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

* "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

* "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

* "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

* "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

* "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

* "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

* "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

* "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

23. Januar 1997

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

14-02-1997

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Dalkafouki, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PC1/EP 96/04421

Im Recherchenbericht angeführtes Patendokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-5143827	01-09-92	US-A- 5049499	17-09-91
DE-A-4314352	03-11-94	KEINE	
DE-C-4104624	21-01-93	KEINE	
EP-A-0192237	27-08-86	CA-A- 1283872	07-05-91
		JP-A- 61204095	10-09-86
		US-A- 5459065	17-10-95
		US-A- 4891320	02-01-90